

University of Groningen

## De herkomst van mitochondriale lecithines in rattelever en *Neurospora crassa*

van Schijndel, Bernardus Cornelis

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1976

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

van Schijndel, B. C. (1976). *De herkomst van mitochondriale lecithines in rattelever en Neurospora crassa*. Drukkerij Boonstra, Groningen.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SAMENVATTING.

Met de in dit proefschrift beschreven experimenten is de herkomst van mitochondriaal lecithine onderzocht. Centraal hierbij stond de vraag of mitochondriën in staat zijn zelf lecithine te synthetiseren en dus, wat betreft één van de kwantitatief belangrijkste membraanfosfolipiden, zelf een bijdrage kunnen leveren aan hun biogenese.

In het inleidende hoofdstuk 1 wordt allereerst ingegaan op aspecten betreffende functie, structuur en biogenese van membranen in het algemeen en die van mitochondriën en microsomen in het bijzonder. Vervolgens wordt een literatuuroverzicht gegeven van de syntheseswegen van membraanfosfolipiden. Het staat vast dat alle in het microsomale membraan voorkomende fosfolipiden door deze celfractie zelf gesynthetiseerd kunnen worden; wat betreft de mitochondriale fosfolipiden staat vast dat de mitochondriën fosfatidezuur, fosfatidylglycerol en cardiolipine kunnen synthetiseren. De herkomst van de overige mitochondriale fosfolipiden is met minder zekerheid bekend. De in de literatuur vaak naar voren gebrachte visie dat mitochondriaal lecithine op het endoplasmatisch reticulum gesynthetiseerd wordt, dankt zijn bestaan overwegend aan experimenten met geïsoleerde celfracties van niet-groeiende weefsels. In dit proefschrift zijn experimenten beschreven met twee snelgroeiende systemen: de regenererende rattelever (hoofdstuk 3) en een groeiend micro-organisme: de schimmel *Neurospora crassa* (hoofdstuk 5). In beide systemen vindt een netto membraansynthese plaats, waardoor deze zich onderscheiden van steady state systemen zoals normale lever.

Daarnaast is aandacht geschonken aan de mogelijkheid dat het ontbreken van lecithinevorming in geïsoleerde mitochondriën veroorzaakt zou kunnen worden door een tekort aan diglyceriden (hoofdstuk 4). In de in dit hoofdstuk beschreven experimenten is gebruik gemaakt van de werking van fosfolipase C om membraangebonden diglyceriden te vormen. Indien een tekort aan diglyceriden de oorzaak is van de uiterst geringe omvang van de cholinefosfotransferase activiteit in geïsoleerde mitochondriën, kan een behandeling met fosfolipase C op relatief zachtzinnige wijze in dit tekort voorzien, zonder dat detergentia behoeven te worden toegepast om toegevoegde diglyceriden in voldoende mate in een fijn verdeelde vorm te brengen.

### Hoofdstuk 3.

De synthese van mitochondriaal en microsomaal lecithine *in vivo* en *in vitro* werden onderzocht in zowel regenererende als normale rattelever.

De *in vivo* incorporatie van intraveneus toegediend  $^{32}\text{Pi}$  in mitochondriaal en microsomaal lecithine bleek in de regenererende lever sneller te verlopen dan in de normale lever. De snelheid waarmee de labeling van mitochondriaal lecithine verliep ten opzichte van microsomaal lecithine, was in de regenererende lever gelijk aan die in de normale lever. Uit het verloop van de specifieke radioactiviteiten van lecithine van beide celfracties bleek noch in de normale noch in de regenererende lever een precursor-product relatie tussen microsomaal en mitochondriaal lecithine. Zowel in regenererende als in normale lever was de specifieke cholinefosfotransferase activiteit in de geïsoleerde mitochondriën zo gering ten opzichte van die in de microsomen, dat de gemeten activiteit verklaard kan worden met verontreiniging van mitochondriën met microsomen. De specifieke cholinefosfotransferase activiteiten van geïsoleerde mitochondriën en microsomen van de regenererende lever waren gelijk aan die van de normale lever.

Het ontbreken van duidelijk waarneembare verschillen tussen de normale en de regenererende lever vormden geen aanleiding tot verder onderzoek met de regenererende lever.

#### Hoofdstuk 4.

Na behandeling van geïsoleerde mitochondriën met fosfolipase C bleek de cholinefosfotransferase activiteit gestimuleerd te worden tot een waarde, die niet toegeschreven kon worden aan verontreiniging met microsomen. Dat het mitochondrion zijn eigen cholinefosfotransferase heeft, wordt mede ondersteund door de volgende waarnemingen: 1 De mitochondriale cholinefosfotransferase activiteit vertoonde een duidelijk andere respons op een toename van het hydrolysepercentage van fosfolipiden door fosfolipase C dan de microsomale cholinefosfotransferase activiteit. 2 Osmotisch-mechanische behandeling of behandeling met digitonine beïnvloedden de cholinefosfotransferase activiteit in microsomen in geringe mate; daarentegen was de cholinefosfotransferase activiteit in de mitochondriën na deze behandelingen zo goed als verdwenen.

De door fosfolipase C gestimuleerde cholinefosfotransferase activiteit kon niet in geïsoleerde binnenmembranen worden aangetoond en evenmin in gedeeltelijk van hun buitenmembraan ontdane mitochondriën, terwijl bovendien bleek dat mitochondriën na behandeling met fosfolipase C niet meer in een binnen- en buitenmembraan fractie waren te scheiden. Deze waarnemingen leidden tot de hypothese dat mitochondriale lecithinesynthese slechts daar plaatsvindt op die plaatsen, waar een innig contact tussen binnen- en buitenmembraan bestaat, gepaard gaand met, of eventueel geïnduceerd door locale hoge concentraties aan diglyceriden.

De specificiteit van het cholinefosfotransferase met betrekking tot de acceptor diglyceriden was in microsomen gelijk aan die in mitochondriën. Hoofdstuk 5.

Voor het in hoofdstuk 5 beschreven onderzoek naar de synthese van mitochondriaal lecithine van *Neurospora crassa* werd een cholinebehoeftige mutant (chol-1 mutant) gebruikt. De aanwezigheid van choline in het kweekmedium is een absolute voorwaarde voor de lecithinesynthese en de groei van deze mutant. Na het kweken van de mutant in aanwezigheid van 0,5 mg choline/l medium was het totale fosfolipidegehalte van mitochondriën en microsomen aanzienlijk lager, dan wanneer met 20 mg choline/l medium gekweekt werd, hetgeen grotendeels, maar niet uitsluitend, toegeschreven kon worden aan een verlaagd lecithinegehalte. Toevoeging van extra choline, tijdens de groei in een medium met weinig choline, leidde tot een snelle respons van het mycelium in de vorm van een verhoging van het lecithinegehalte van zowel mitochondriën als microsomen. Hoewel ook in dit organisme de cholinefosfotransferase activiteit *in vitro* hoofdzakelijk in de microsomale fractie werd aangetoond, waren de resultaten van de *in vivo* incorporatie van radioactieve fosfolipideprecursors (i.c.  $^{14}\text{C}$ -choline en  $^{32}\text{P}_i$ ) niet in overeenstemming met de hypothese, dat mitochondriaal lecithine extramitochondriaal gesynthetiseerd wordt en vervolgens naar de mitochondriën wordt getransporteerd.

In de samenvattende discussie is getracht argumenten bijeen te brengen, zowel afkomstig uit het in dit proefschrift beschreven onderzoek als uit literatuurgegevens, die tot de conclusie geleid hebben dat mitochondriën onder geschikte omstandigheden in staat zouden zijn *in vivo* één van hun kwantitatief belangrijke fosfolipiden te synthetiseren: lecithine.